Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
Vorstand: Professor Dr. Haffner

Zur Wechselbeziehung von Calcium und Phosphat

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin,
Chirurgie und Geburtshilfe
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Martin Häußermann
aus Ensisheim

1937

Buchdruckerei Bölzle, Tübingen, Marktgasse 10

Dekan: Professor Dr. Usadel

Berichterstatter: Prof. Dr. Haffner

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät
der Universität Tübingen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Zur Wechselbeziehung von Calcium und Phosphat.

Die Funktion von Ca und Phosphat im Organismus ist aufs Engste miteinander verkettet, was schon rein chemisch dadurch bedingt ist, daß unter bestimmten Reaktionsverhältnissen, wie sie auch im Organismus gegeben sind, schwer lösliche Ca-Phosphate entstehen. So besteht die Knochensubstanz vorwiegend aus solchen schwer löslichen Ca-Phosphatverbindungen. Auch das Epithelkörperhormon wie das Vitamin D beeinflussen stets den Stoffwechsel beider Jonen. Es muß daher auch die Zufuhr eines der beiden Jonen in ihrer Wirkung von der Stoffwechsellage des anderen Jons abhängig sein. Die folgende Arbeit soll einen Beitrag zur Aufklärung dieser Wechselbeziehungen liefern. Unsere Fragestellung beschränkt sich in der Hauptsache auf die Aufnahme- und Ausscheidungsbeziehungen der beiden Jonenarten.

Es ist schon lange bekannt, daß sowohl Resorption wie Ausscheidung der beiden Jonen von der Reaktionslage und damit von der Ernährungsart bestimmt wird; es wurde daher diesem Einfluß in Folgendem besonders nachgegangen.

Die Literatur über den Ca- und Phosphatstoffwechsel ist außerordentlich umfangreich. Eine Übersicht über unser Wissen auf diesem Gebiet findet man in:

1. Abderhalden, A.: Handbuch der Physiol. Chemie, Urban u. Schwarzenberg. Berlin und Wien 1920.
2. — Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden Abt. IV, Teil 5. Urban und Schwarzenberg. Berlin und Wien.
3. Heffter, A.: Handbuch der Experim. Pharmakologie, 1923.
4. Höber, R.: Jahrbuch der Physiologie des Menschen. Berlin, Springer 1928.
5. Lichtwitz, L.: Klin. Chemie. Berlin, Springer 1930.
6. Loew, O.: Zur chem. Physiologie des Kalkes bei Mensch und Tier. München 1916.
7. Rein, H.: Einführung in die Physiologie des Menschen. Berlin Springer 1936.
8. Rona: Praktikum der Physiol. Chemie, II (Blut, Harn) Berlin, Springer 1936.

9. Thannhauser, S.: Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten. München, Bergmann 1929.

10. Zondek, S.: Elektrolyte, ihre Bedeutung für Physiologie, Pathologie und Therapie. Berlin, Springer 1927.

Die uns vorliegende Fragestellung scheint tierexperimentell nicht eingehender untersucht worden zu sein. Im Gegensatz zu vielen Untersuchungen anderer Autoren handelt es sich bei unseren Versuchen um relativ kurzfristige Einwirkungen. Wie mit Recht verschiedentlich betont wird, können kurzfristige Versuche mit solchen Mineralien keine Auskunft über das Bilanzverhältnis geben, da diese Mineralien in erheblichen Mengen über Wochen retiniert werden. Aber auch bei langfristigen Versuchen scheint es kaum zu gelingen, im Ca- und Phosphatstoffwechsel ein Gleichgewicht zu erzielen. Und irgendwie war jedenfalls auch von kurzfristigen Versuchen ein Einblick in die gegenseitige Abhängigkeit der beiden Jonen zu erwarten, was sich dann auch in den Versuchsergebnissen bestätigt hat. Eine Beschränkung auf die Verfolgung von Ca- und Phosphat ist naturgemäß lückenhaft, da auch noch andere Stoffe auf ihren Stoffwechsel Einfluß haben, die unter Umständen in wechselnder Menge zugeführt werden: z. B. Mg, Fette, Vitamine. Auch sonst gibt es bei solchen Versuchen viele schon oft erörterte Fehlerquellen, die, auch wenn sie bekannt sind, nicht immer vollständig ausgeschlossen werden können.

I. Arbeitsweise.

1. Haltung und Fütterung der Tiere.

Für die Versuche über die Ausscheidungsverhältnisse von Ca und Phosphaten wurden 3 Kaninchen verwendet. Tier I (männlich, Gewicht 3000 g) benutzten wir während der ganzen Periode; Tier II (weiblich, 3300 g Gewicht) wurde nach dem ersten Versuch durch ein Männchen (Tier III, Gewicht 2000 g) ersetzt. Die Versuche an diesen Tieren erstreckten sich über $2^1/_2$ Monate (Mai bis Juli 1936). Das Gewicht der Tiere schwankte während dieser Zeit höchstens um 15 %. Die Tiere wurden dauernd in getrennten Versuchskäfigen gehalten, die ein quantitatives Erfassen der Ausscheidungen ermöglichten.

Als Futter wurde je nach der Fragestellung Rüben (frisch oder als getrocknete Schnitzel), Heu oder Hafer gereicht.

Bei Rübenfütterung erhielt das Versuchstier täglich eine sauber gewaschene, abgewogene Rübe. Der nicht verzehrte Rest wurde andern Tags zurückgewogen und entfernt. Extrawasser wurde hierbei nicht verabreicht.

Bei Haferfütterung setzte man dem Tiere die abgewogene Hafermenge in den Käfig und dazu eine abgemessene Menge Wasser. Nachts wurde das Wassergefäß entfernt, um zu verhindern, daß durch Plantschen des Tieres der Harn verdünnt wurde. Die Reste an Hafer und Wasser wurden bei der nächsten Fütterung zurückgewogen.

Im Durchschnitt wurden pro kg Tier und Tag 300 g Rüben, 25 bis 40 g Hafer, 20 bis 25 g Heu verbraucht. Vom Wasser machten auch die Tiere mit Trockenkost spärlich Gebrauch (20 bis 30 ccm pro kg Tier und Tag).

Es wurde auch ein Versuch durchgeführt, bei dem das Tier getrocknete Rübenschnitzel erhielt; dazu wurde Wasser mit der Schlundsonde verabreicht.

Das verwendete Futter wurde auf seinen Gehalt an Ca und Phosphorsäure analysiert. Dazu veraschten wir bestimmte Mengen des Materials und stumpften die salzsaure Lösung der Asche mit Ammoniak bis zum Neutralpunkt ab. Tropfenweise fügten wir Eisessig zu, bis blaues Lackmuspapier sich rötete. In dieser Lösung bestimmte man Ca und Phosphorsäure wie beim Harn. (Siehe unten).

Wir fanden:

Millimol

in 1 g	Ca	Phosphorsäure
Hafer	0,029	0,12
Heu	0,29	0,11
Rüben	0,00725	0,0009

1 g Rübenschnitzel entspricht ungefähr 10 g frischer Rübe. Setzen wir die tägliche Zufuhr bei einem 3 kg schweren Tier mit 900 g Rüben, 65 g Hafer, 60 g Heu an, so erhielt das Tier an Mineralien:

Millimol Gesamtzufuhr

Futterart	Ca	Phosphorsäure
Hafer	1,9	7,8
Heu	19,1	0,66
Rüben	6,5	0,8

Somit bedeutet die Haferfütterung eine Ernährung mit überreichem Gehalt an Phosphorsäure und geringem Gehalt an Ca;

Heufütterung eine Ernährung mit überreichlichem Ca-Gehalt und viel geringerem Phosphatgehalt;

Rübenfütterung eine Ernährung mit reichlichem Ca-Gehalt und relativ wenig Phosphaten.

Es wurden auch einige Analysen der Faeces bei Hafer- und bei Rübenfütterung durchgeführt. Der durch ein Sieb abgefangene Kot wurde sogleich gewogen, die zu untersuchende Menge von 2 g abgeteilt und in Papierbeuteln trocken aufbewahrt. Zur Analyse wurde die abgeteilte Menge von 2 g in der Reibschale unter Zugabe von einigen ccm n-10 Essigsäure fein zerrieben, danach $^1/_2$ Stunde aufs Wasserbad gestellt. Dann wurde filtriert, mehrmals mit Essigsäure nachgespült und auf 50 ccm ergänzt. Es entsprachen somit 50 ccm Lösung 2 g Faeces. Diese Lösung wurde demselben Arbeitsgang unterworfen, wie wir ihn beim zentrifugierten Harn zu beschreiben haben.

Das Hafertier lieferte reichlichen, hellgefärbten, geformten Kot. Die absoluten Ausscheidungen von Ca und Phosphorsäure im Kot entsprechen dem Verhältnis $Ca_3(PO_4)_2$; sie liegen höher als beim Rübentier.

Das Rübentier lieferte in 24 Stunden wenig (oder keinen) dunkel gefärbten, schlecht geformten, öfters durchfälligen Kot. Auch hier liegen die absoluten Ausscheidungen der beiden Jonen in der Größenordnung beisammen.

Bei Umsetzung auf saures bzw. alkalisches Futter vertauschten beide Tiere prompt Menge und Charakter ihrer Darmausscheidungen.

Hafertier:		Ca	Phosphors.
Ausscheidung durch Darm	etwa wie	1,5	1,5
Ausscheidung durch Nieren		0,2	15

Rübentier:		Ca	Phosphors.
Ausscheidung durch Darm	etwa wie	0,8	0,8
Ausscheidung durch Nieren		0,8	1

2. Zufuhr der Salze.

Kalk und Phosphat wurden teils peroral in Wasser gelöst mit der Schlundsonde verabreicht, teils intravenös verabfolgt. Intravenös injizierten wir in die Ohrenvenen möglichst langsam (15 Min.) und beobachteten,

ob die Tiere sich normal verhielten. Besonderes konnte nicht beobachtet werden. Auch nach peroraler Fütterung waren die Tiere bald wieder munter.

Als Präparate verwendeten wir:

Zur intravenösen Injektion: 10 %iges Calcium Sandoz; eine Mischung von gleichen Teilen einer $\frac{\text{Mol}}{3}$ Lösung von primärem und sekundären Na-Phosphat.

Bei peroraler Zufuhr: 10 %ige wässrige Lösung von $CaCl_2$; eine Mischung von $\frac{\text{Mol}}{3}$ primärem und sekundärem Na-Phosphat aa; $\frac{\text{n}}{10}$ HCl und $\frac{\text{Mol}}{20}$ Na_2CO_3.

Bezüglich Einzelheiten wird auf die nachfolgende Tabelle verwiesen.

Bei den einzelnen Versuchen wurde stets so vorgegangen, daß die Tiere vor Beginn einige Tage auf das jeweilige Versuchsfutter gesetzt wurden.

3. Gewinnung und Analyse des Harns.

Beim ersten Versuch analysierten wir den innerhalb von 24 Stunden von Morgen zu Morgen spontan entleerten Harn, ebenso die in dieser Zeit gewonnenen Faeces. Bei den späteren Versuchen wurde der Harn teils 2 mal, teils 3 mal täglich, teils in noch kürzeren Zwischenräumen mit dem Katheter abgenommen. Der daneben erzeugte Spontanharn wurde ebenfalls analysiert. Trotz der langen Fortsetzung der Versuche wurde das Katheterisieren gut ertragen, nur Tier I zeigte eine rasch überwundene Cystitis.

Die Menge des gewonnenen Harnes wurde sofort gemessen, seine Wasserstoffjonenkonzentration und Titrationsacidität bestimmt und dann 50 ccm für die Mineralbestimmung abgeteilt. Diese Menge wurde mit 0,5 ccm 20 %iger Thymollösung versetzt und in verschlossenem Gefäß bis zur Analyse zurückgestellt.

Die Bestimmung des Harn-pH geschah teils kolorimetrisch nach der Nybergschen pH-Bestimmungsskala, teils elektrometrisch mit dem Apparat Dr. Roeder: 2 Versuchsgläser, die mit Platinelektrode versehen sind, werden einerseits mit dem zu untersuchenden Harn, andrerseits mit einer Pufferlösung (Phosphat- oder Boratpuffergemisch) beschickt und beiden Chinhydron in Substanz zugegeben. Die beiden Gläser werden mit einem Agarheber leitend verbunden und der Pufferlösung solange Natronlauge

zutitriert, bis ein an die Platinelektroden angeschlossenes Kapillarelektrometer keinen Ausschlag mehr gibt, in beiden Lösungen somit das gleiche Potential, d. h. dieselbe Wasserstoffjonenkonzentration vorhanden ist. Die Größe dieser Wasserstoffjonenkonzentration wird aus der zur Puffermischung zugegebenen Menge NaOH errechnet.

Die Bestimmung der Titrationsacidität (bzw. — alkalescenz) wurde möglichst bald nach der Gewinnung ausgeführt (auch hier kann ammoniakalische Gärung stören). Dazu werden in der Regel 10 ccm Harn verwendet, die mit der gleichen Menge Wasser und 0,5 ccm alkoholischer Phenolphthaleinlösung versetzt wurden. Bei kleiner Harnmenge begnügten wir uns mit 2 ccm Harn.

Die in den Tabellen angegebenen Werte sind auch hier auf 10 ccm umgerechnet. Die Titration geschah jeweils entweder mit $\frac{n}{10}$ HCl oder $\frac{n}{10}$ NaOH auf den Umschlagspunkt des Phenolphtaleins. Sowohl zur Bestimmung des pH wie der Titrationsacidität wurde der nicht filtrierte Harn verwendet, bei Bestimmung der letzteren, um die darin etwa vorhandenen Salzfällungen mit zu erfassen. Der bei Heufütterung stark gefärbte Harn (alkalisch: grün, stark sauer: gelbrot) erschwerte die Titration etwas.

Die zur Ca- und Phosphoranalyse bestimmten Harnmengen wurden, falls sie lakmusalkalisch waren, durch tropfenweisen Zusatz von Eisessig bis zur Rötung blauen Lackmuspapiers angesäuert. Die dabei verbleibenden oder entstehenden Trübungen wurden durch Zentrifugieren (10 Min.) entfernt. Je nach Art der Fütterung wurde es notwendig, 2 bis 10 ccm des unverdünnten oder 2 ccm des bis 1:100 verdünnten Harnes zu benützen. Den Grad der Verdünnung bestimmten jeweils vorhergehende Fällungsversuche. Bei unseren Versuchsbedingungen mußte z. B. der Harn des Hafertieres meist stärker verdünnt werden als der des Rübentieres; für die Phosphorsäurebestimmung war oft eine andere Verdünnung nötig als für die Ca-Bestimmung. — Jeweils 2 Proben des so vorbereiteten Harns wurden den Nachweismethoden für Ca bzw. Phosphorsäure unterworfen.

Zum Nachweis von Ca diente uns die Mikromethode nach De Waard (Biochem. Zeitschrift 97, 1918 S. 186). Wir gingen dabei gemäß seinen Vorschriften folgendermaßen vor.

In ein ausgezogenes Zentrifugengläschen werden 2 ccm Harn pipettiert und 1 ccm gesättigte Ammoniumoxalatlösung zugegeben. 15 Minuten stehen lassen, dann 5 Minuten zentrifugieren. Der Niederschlag wird 3 mal mit je 2 ccm aqua destillata gewaschen (jeweils zentrifugieren

und abnutschen). Die Waschflüssigkeit darf nicht mehr trüben. Dann wird der Niederschlag in 1 ccm $\frac{n}{1}$ H_2SO_4 gelöst, im Wasserbad erwärmt und mit $\frac{n}{100}$ Permanganatlösung titriert. Die Permanganattitration ist weniger zeitraubend, wenn die Lösung noch heiß vom Wasserbad (80°) zur Titration kommt. Berechnung: 1 ccm Permanganatlösung = 0,2 mg Ca. Die Bestimmung geschah stets in Doppelversuchen. Wenn zwischen beiden Proben ein erheblicher Unterschied bestand, wurde eine dritte und vierte Probe angesetzt. In Tabellen und Kurven trugen wir den Mittelwert ein. Das Resultat wurde auf mg Ca pro ccm und dann auf Millimol Ca pro 100 ccm umgerechnet und durch Multiplizieren mit der Harnmenge die absolute Harnausscheidung festgestellt.

Zum Nachweis der H_3PO_4 diente uns die Phosphorsäuretitration nach Samson (D. M. Wochenschr. 1925 S. 1571).

In ein ausgezogenes Zentrifugengläschen werden 2 ccm Harn pipettiert und unter jeweils gutem Durchschütteln

1 ccm 30 %ige Ammoniumnitratlösung
0,4 ccm konz. HNO_3
1 ccm 3 %ige Ammoniummolybdatlösung

zugegeben. Das Gläschen wird 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt, bis ein grüngelber Niederschlag auftritt, dann auf Zimmertemperatur abgekühlt (eine Stunde). Unter leichtem Umschütteln wird 1 ccm 96 %iger Alkohol zugegeben und der Niederschlag 3—5mal mit je 3—4 ccm 1 %iger Kaliumnitratlösung gewaschen, nachdem er 10 Min. abzentrifugiert worden ist. Der Waschflüssigkeit wird $^1/_2$ ccm Alkohol (96 %) unter leichtem Schütteln zugesetzt; $^1/_2$ ccm Alkohol (96 %) wird überschichtet (dann bleibt nichts vom Niederschag an der Wand haften). Nach dem Waschen wird geprüft, ob die Waschflüssigkeit nunmehr rein sei; sie darf blaues Lackmuspapier nicht mehr röten.

Der Niederschlag wird in $\frac{n}{25}$ NaOH im heißen Wasserbad gelöst: je nach Größe des Niederschlags wird eine abgemessene Menge Natronlauge zupipettiert; gewöhnlich reichen 3 oder 6 ccm aus. Nach Zusatz von 1 Tropfen Phenolphtaleinlösung titriert man unter gutem Umschütteln mit $\frac{n}{25}$ HCl bis zur Entfärbung des Phenolphtaleins. Die Differenz zwischen der Lösung verbrauchten NaOH und der zur Rücktitration verwendeten HCl ergibt mit 0,1511 multipliziert die mg H_3PO_4 in der Probe. Das Resultat rechneten wir auf mg H_3PO_4 pro ccm und auf Millimol pro 100 ccm um und stellten durch Multiplizieren mit der Harnmenge die Gesamtausscheidung im Harn fest.

Es bewährte sich, für bestimmte Reagenzien stets die selben Pipetten zu verwenden.

Sämtliche in die Tabellen eingetragenen Werte beziehen sich auf Gramm und Kubikzentimeter, soweit dies nicht ausdrücklich anders angegeben. Da wir bei der Berechnung mehr Stellen nach dem Komma ausgerechnet haben, als nachher in die Tabellen eingetragen, so unterscheiden sich manchmal Produkt aus Conzentration und Harnmenge um ein Geringes von der Gesamtausscheidung. Bei den Faeces ist nur die absolute Ausscheidung eingetragen. „—" in der Tabelle bedeutet: nicht gemessen, „0": nichts erhalten.

II. Versuche.

1. Einfluß des Futters.

Nachdem in Vorversuchen gefunden war, daß sich unsere Tiere bei Hafer- und Rübenfütterung entsprechend den nach der Literatur zu erwartenden Verhältnissen eingestellt hatten, wurde der Versuch gemacht, die Futterart bei beiden Tieren zu tauschen.

a) Versuch vom 10. 6. bis 15. 6. 1936. Tier I.

Rübentier wird auf Fütterung mit Hafer und (tagsüber) Wasser umgesetzt.

Ergebnis: Starke Abnahme der Harnmenge. Der aktuell und titrimetrisch alkalische Harn wird sauer nach 24 Stunden. Die Einengung des Harns eilt dem Umschlag voraus: hohe Titrationsalkalescenz kurz vor dem Umschlag. Die Säuerung zeigt Remissionen.

Ca am Rübentier konzentrationsmäßig nieder, absolut relativ hoch. Am Hafertier nach 48 Stunden Ansteigen der Konzentration, mäßiges Absinken der absoluten Harnausscheidung.

Phosphorsäure konzentrationsmäßig und absolut am Rübentier in gleicher Höhe mit Ca. Auf Haferfütterung starkes Ansteigen erst der Konzentration, dann der absoluten Harnausscheidung unter Remissionen (vergleiche pH). Allmähliches Ansteigen spricht für anfängliche Speicherung.

Tier I.

Zeit	Futter	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
10. 6. 1936								
Morgen	Rüben	115	9,2	12,5 HCl	0,08	0,1	0,33	0,38
Mittag		170	8,9	6,4	0,16	0,27	0,1	0,18
Abend		255	9	8	0,11	0,27	0,12	0,31
11.		150	9	9,2	0,11	0,17	0,23	0,35
		212	9,2	8,4	0,08	0,16	0,023	0,05
		125	9	5	0,15	0,18	0,04	0,05
12. Morgen	Hafer- und Wasser-	45	9,8	—	0,16	0,07	0,5	0,23
Abend	gefäß	70	8,8	4,4	0,17	0,11	0,2	0,15
13. Morgen		36,5	9,1	19	0,19	0,07	0,14	0,05
Mittag		5,8	7,6	—	0,2	0,22	0,5	0,03
Abend		17	6,4	—	—	—	0,9	0,16
14. Morgen		40	8,8	3,6	0,44	0,18	6,6	2,44
Abend		0	0	0	0	0	0	0
15. Morgen		37	5,9	8,4 NaOH	0,46	0,18	6,6	2,44
Abend		23	—	—	0,27	0,06	7,2	2,67
16. Morgen		29	—	—	0,33	0,1	7,0	2,08
Abend		32,5	—	—	0,67	0,2	4,3	1,4

b) Versuch vom 10. 6. bis 15. 6. 1936. Tier III.

Hafertier wird auf Rübenfutter umgesetzt.

Ergebnis: Starke Zunahme der Harnmenge. Der aktuell und titrationsmäßig saure Harn wird alkalisch 24 Stunden nach der neuen Fütterung.

Ca am Hafertier konzentrationsmäßig hoch, absolut nieder. Am Rübentier schon 12 Stunden nach dem Umsetzen Absinken der Konzen-

tration, absoluten Menge. (Zunahme der absoluten Menge in anderen Versuchen weniger sicher).

Phosphorsäure konzentrationsmäßig und absolut am Hafertier höher wie Ca. Auf Rübenfütterung sehr starkes Absinken der Konzentration bereits nach 12 Stunden; deutliches Absinken unter Remissionen auch der absoluten Menge. Am Rübentier liegen die Phosphorsäurewerte unter den Ca-Werten. (Sek. Phosphat bindet mehr Ca als primäres). Tagesschwankungen von Ca- und Phosphorsäurekonzentrationen bedingt durch Harnmengen — absolute Werte schwanken nicht so stark. Morgenharn weniger und konzentrierter. Schwankungen bedingt durch Wasseraufnahme: Tiere bekamen nur tagsüber Wassergefäß.

Tier III.

Zeit	Futter	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
10. 6. 1936								
Morgen	Hafer u.	17	5,8	1,0 NaOH	0,74	0,12	7,8	1,34
Mittag	Wasser-	16	5,5	—	0,97	0,11	2,1	0,34
Abend	gefäß	30	5,4	4,6	0,35	0,1	2,2	0,34
11.		15	6,6	—	1,0	0,15	4,5	0,68
		15	6,9	0,9	0,6	0,09	2,7	0,41
		18,5	5,6	0,54	0,7	0,13	1,9	0,35
12. Morgen	Rüben	15	6,4	1,0	1,2	0,18	6,8	1,03
Abend		133	5,7	1,5	0,2	0,27	0,5	0,68
13.		51,5	8,6	1,3 HCl	0,18	0,09	0,5	0,15
		127	8,4	1,5	0,17	0,22	0,3	0,43
14.		280	9,2	7,2	0,19	0,53	0,14	0,38
		315	0,7	3,4	0,2	0,7	0,18	0,57
15.		246	8,9	3,6	0,17	0,41	0,3	0,79
		255	—	—	0,38	0,9	0,13	0,32
16.		170	—	—	0,19	0,32	0,05	0,08
		145	—	—	0,21	0,34	0,04	0,05

2. Versuche zur Bedeutung des Wassergehaltes im Futter.

Hafer- und Rübenfütterung unterscheiden sich vor allem auch durch ihren Wassergehalt. Es wurde daher in einem besonderen Versuch festzustellen versucht, welchen Einfluß der Wassergehalt auf die Zusammensetzung des Harns besitzt. Diese Frage wurde geprüft:

1. durch Wasserzugabe zu Haferfutter.

2. durch Ersatz der Rübenfütterung durch eine (ebenfalls alkalische) Heufütterung bzw. Heufutter mit Wasserzugabe.

c) Versuch vom 6. 7. 36—11. 7. 1936. Tier I.

Einfluß von Wasserzufuhr auf Hafertier. 2 mal täglich je 100 ccm H_2O.

Ergebnis: Harnmenge 3—4fach vermehrt.

Aktuelle Acidität unverändert, Titrationsacidität nimmt deutlich ab (Verdünnung).

Ca und Phosphorsäure sinken, wie zu erwarten, in der Konzentration, aber auch die absolute Ausscheidung ist vermindert.

Tier I.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_3	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
6. 7. 1936								
Morgen	Hafer u.	55	5,5	9,2	—	—	—	—
Mittag	Wasser-			NaOH				
Abend	gefäß.	19	6	13,5	—	—	—	—
7.		30	6,3	8	—	—	—	—
8.	100 H_2O	45	5,8	15	0,47	0,2	12,0	5,4
		44	5,4	5,5	0,43	0,19	14,9	6,6
9.	100 H_2O	25	5,5	9	—	—	—	—
	100 H_2O	63,5	6,3	1,6	—	—	—	—
10.	100 H_2O	120	5,2	2,2	0,08	0,09	1,8	2,2
	100 $H_2$2	103	5,5	1,9	—	—	—	—
11.		96	6,5	1,8	0,07	0,07	1,5	1,5

d) Versuch vom 6. 7. bis 11. 7. 1936. Tier III.

Einfluß von Heufutter am Rübentier. Zuerst ohne, dann mit Wasser.

Ergebnis: Zuerst Rückgang der Harnmenge; durch Wasserzufuhr wieder gesteigert.

pH im Wesentlichen unverändert; die Titrationsalkalescenz steigt durch Heu zunächst an infolge Konzentrierung des Harns, sinkt nach Wasserzufuhr wieder ab.

Die Phosphatausscheidung liegt niederer als bei Rübenfütterung (sinkt fast bis null).

Ca ist in Konzentration und absolut stark vermehrt, und zwar im konzentrierten Harn absolut und konzentrationsmäßig stärker als im verdünnten Harn.

Tier III

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimoll Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
6. 7. 36. Morgen	Rüben							
Abend		225	8,7	5,0 HCl	—	—	—	—
7.		330	8,7	4,0	—	—	—	—
		240	8,5	2,2	—	—	—	—
8.	Heu u. Wasser-	255	9,2	0,1	0,1	0,26	0,13	0,32
	gefäß	56	8,5	12	—	—	—	—
9.		34	8,5	1,2	10,5	3,4	0,01	0,034
	100 H_2O	sp 125	8,5	1,6	1,35	2,25	0,016	0,02
		k 37	8,0	0,2 NaOH				
	Heu							
10.	100 H_2O	140	8,5	1,6 HCl	1,35	1,93	0,012	0,017
	100 H_2O	100	8,5	1,4	—	—	—	—
11.		72	9,0	3,2				

3. Versuch mit Säuerung durch HCl-Verabreichung.

Anschließend an die Versuche zur Frage des Futtereinflusses sei zunächst ein Versuch wiedergegeben, bei dem das Rübentier durch Salzsäuregaben nach sauer umgestimmt wurde.

Ein entsprechender Gegenversuch mit dem Hafertier zeigte ebenfalls die Möglichkeit, mit Verfütterung von Sodalösung eine Alkalisierung des Harnes zu erreichen; man erzielt die Säuerung beim Rübentier relativ schwerer als die Alkalisierung beim Hafertier.

e) Versuch vom 20.—25. 7. 1936. Tier III.

Säuerung mittels Salzsäureverabreichung.

Tier mit Rübenschnitzel und Wassergefäß (Harn alkalisch) erhält HCl. 2 mal im Tag je 100 ccm 10 HCl.

Der Versuch wird abgebrochen, weil das Tier nicht mehr frißt. Tier wird getötet. Magen o. B.

Ergebnis: Die Säuerung des Harnes erfolgt eben bis unter Neutralpunkt.

Die Abnahme der Harnalkalescenz erfolgt bei gleichzeitiger Steigerung der Phosphorsäureausscheidung, sie geschieht also unter Umwandlung von sekundärem in primäres Phosphat.

Ca und Phosphorsäure steigen sowohl in Konzentration wie Gesamtmenge mit Säuerung des Harnes an. Der Anstieg ist jedoch wesentlich geringer als der Anstieg nach vermehrter Zufuhr der Salze selbst.

Tier III.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
29. 7. 36 Morgen	Rübenschnitzel 100 H_2O							
Abend	oral	35	8,5	1,5 HCl	—	—	—	—
21.	„ „	26	9,2	7,5	—	—	—	—
	„ „	105	9,0	1,2	0,27	0,275	0,54	0,57
22.	100 $\frac{n}{10}$HCl oral	79	8,9	2,4	—	—	—	—
	„ „	89	8,3	0,8	—	—	—	—
23. Tier	„ „	126	8,2	0,5	—	—	—	—
ver-	„ „	100	7,5	0,3 NaOH	0,37	0,37	0,6	0,6
wei-								
24. gert		67	6,4	1,4	1,13	0,75	1,28	0,86
Futter		74	6,5	1,3	—	—	—	—
25.		75	7,5	0,2	—	—	—	—

4. Versuche mit $CaCl_2$-Verfütterung.

f) Versuch vom 14.—18. 7. 36. Tier I.

Orale Ca-Zufuhr (20 ccm 10 %ige CaCl-Lösung pro kg Tier). Futter: Hafer und Wassergefäß (der saure Harn wird schon vor der Ca-Fütterung leicht alkalisch als Folge einer Katheter-Cystitis. Während des Versuchs bleibt das pH unverändert, die Titrationsalkalescenz nimmt etwas ab. Hinsichtlich der inneren Verhältnisse ist das Tier trotzdem nach wie vor als „saures" Tier zu betrachten).

Ergebnis: Auch hier tritt deutliche Zunahme des Harn-Ca in Konzentration und absolut ein. Nach 24 Stunden sind aber zusammen nur

etwa 4 % des verabreichten Ca durch den Harn ausgeschieden; die Ausscheidung ist zwar noch nicht beendet, offenbar wird aber hier das Ca stärker retiniert als beim Rübentier.

Die Phosphorsäureausscheidung sinkt in Konzentration und absolut stark ab. Offenbar geschieht die Zurückhaltung des Ca mit Hilfe der sehr reichlich im Haferfutter vorhandenen Phosphorsäure.

Tier III.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
14. 7. 36								
Morgen	Rüben	157	8,5	1,6	—	—	—	—
Abend		300	9,0	1,9	—	—	—	—
15.		225	9,0	3	—	—	—	—
		240	9,0	1	0,057	0,133	0,14	0,33
16.		—	—	—	—	—	—	—
		240	8,9	3,5	0,05	0,12	0,14	0,33
17.	40 ccm	330	9,2	3	0,06	0,19	0,2	0,67
	$CaCl_2$lös. oral	266	8,5	0,7	2,2	5,99	0,18	0,48
18.		200	8,5	1	0,8	1,5	0,03	0,07

g) Versuch vom 14.—18. 7. 1936. Tier III.

Orale Ca-Zufuhr (20 ccm 10 %ige $CaCl_2$lösung pro kg Tier). Futter: Frische Rüben.

Ergebnis: Der Harn bleibt während der ganzen Zeit alkalisch auf Phenolphtalein. Die aktuelle wie titrimetrische Alkalescenz nimmt ganz wenig ab.

Es erfolgt eine gewaltige Zunahme des Harn-Ca in Konzentration und absolut. In 24 Stunden wird zusammen etwa ein Fünftel des verabreichten Ca durch den Harn ausgeschieden. Die Ausscheidung ist nach 24 Stunden noch nicht beendet.

Die Phosphorsäureausscheidung ist nicht sicher verändert; wenn, so ist eher Senkung als Steigerung vorhanden.

Tier III.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
14. 7. 36								
Morgen	Hafer u. Wasser-	76	5,0	7,6 NaOH	—	—	—	—
Abend	Gefäß	32,5	6,0	7,5	—	—	—	—
15.		21	6,0	20	—	—	—	—
		20	6,0	14	0,016	0,32	10,3	2,1
16.		—	—	—	—	—	—	—
		23	6,3	11	0,004	0,09	10,5	2,4
17.	60 ccm 10 %ige	29	8,2	3,5 HCl	0,004	0,11	4,8	1,4
	$CaCl_2$ Lösung	49	8,2	1,0	0,015	0,73	0,33	0,16
18.		56	8,2	1,5	0,02	1,15	0,20	0,12

5. Versuche mit Phosphatfütterung.

h) Versuch vom 16. — 19. 6. 36. Tier I.

Phosphatlösung ($\frac{mol}{3}$ primäres und sekundäres Natriumphosphat zu gleichen Teilen) oral bei Haferfütterung.

Ergebnis: Reaktion bleibt sauer, Näheres nicht untersucht.

Phosphorsäure steigt in Konzentration und absolut an, die Ausscheidung ist nach 48 Stunden noch nicht beendet. Gesamtausscheidung in 48 Stunden etwa $^4/_5$ der zugeführten Phosphorsäure. Die Ca-Ausscheidung ist nicht sicher verändert; wenn, dann Senkung, nicht Steigerung.

Die im Vergleich zum Rübentier sehr viel stärkere Phosphorsäureausscheidung des Harnes erklärt sich wohl aus der schon vorhandenen Phosphorsäureanreicherung des Tieres infolge des starken Phosphatgehaltes des Haferfutters. Die vermehrte Phosphorsäuremenge im Harn nimmt kein Mehr an Ca mit.

Tier I.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamt-ausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamt-ausscheidung
1.6 6. 36.								
Morgen	Hafer u. Wasser-	29	—	—	0,33	0,095	6,99	2,03
Abend	Gefäß	32,5	—	—	0,67	0,21	4,3	1,39
17.	60 ccm Phosphat-	22,5	—	—	0,51	0,12	10,00	2,31
	lösung oral	19	—	—	0,36	0,07	11,00	2,1
18.		32	—	—	0,15	0,05	16,6	5,32
		41	—	—	0,2	0,082	12,00	4,75
19.		50	—	—	0,12	0,06	7,5	4,0

i) Versuch vom 16.—19. 6. 1936. Tier III.

Phosphatlösung $\frac{\text{mol}}{3}$ (primäres und sekundäres Natriumphosphat zu gleichen Teilen) oral bei Rübenfütterung.

Ergebnis: Reaktion des Harns bleibt lakmusalkalisch. Näheres nicht untersucht.

Phosphorsäure steigt in Konzentration und absolut deutlich an, erreicht nach 48 Stunden wieder Normalwerte.

Gesamtausscheidung im Harn in 48 Stunden etwa $^1/_4$ der verfütterten Phosphorsäure.

Ca ist absolut und in Konzentration auf der Höhe der Phosphorsäureausscheidung im Harn verringert. (Durch das nicht ausgeschiedene Phosphat wird also Ca retiniert oder nach dem Darm abgeleitet.)

Tier III.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
16. 6. 36.								
Morgen	Rüben	170	—	—	0,186	0,31	0,045	0,078
Abend		145	—	—	0,21	0,3	0,38	0,054
17.	40 ccm Phosphatlösung oral	140	—	—	0,2	0,28	0,037	0,051
		175	—	—	0,16	0,28	0,58	0,97
18.		110	—	—	0,08	0,82	0,98	1,08
		280	—	—	0,13	0,033	0,27	0,75
19.		290	—	—	0,19	0,56	0,034	0,1

6. Versuche mit intravenöser Phosphatdarreichung.

Ein Parallelversuch mit intravenöser Ca-Darreichung verlief negativ, insofern durch die i. v. mögliche, relativ kleine Ca-Gabe (1 ccm 10 %iges Calcium Sandoz) keine Aenderung der Harnzusammensetzung erreicht wurde.

k) Versuch vom 4.—6. 6. 1936. Tier I.

Am Rübentier Phosphatlösung ($\frac{mol}{3}$ primäres und sekundäres Na-Phosphat aa) 5 ccm pro kg Tier intravenös.

Ergebnis: Keine Aenderung des Allgemeinbefindens.

Schon 3 Stunden nach Injektion wird der Harn aktuell und titrimetrisch sauer. Die Säuerung wird schneller erreicht als mit HCl-Fütterung, geht aber schon nach 8 Stunden bis dicht unter Phenolphtalein zurück.

Die absolute Phosphorsäureausscheidung im Harn steigt an, noch stärker die Konzentration. In 24 Stunden wird ungefähr die Hälfte der verabreichten Phosphorsäure ausgeschieden.

Ca zeigt ebenfalls Ansteigen der Konzentration.

Tier I.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
4. 6. 36.								
Morgen	Rüben							
Abend		330	8,4	3,0 HCl	0,21	0,68	0,12	0,4
5. Morgen		250	8,8	5,2	0,22	0,54	0,54	1,35
Mittag	15 ccm	sp 269	8,5	3,4	0,09	0,24	0,1	0,26
	Phosphat-	k 75	8,5	—	0,3	0,23	0,15	0,11
	lös. i. v.							
Nach 3 St.		90	6,4	1,4 NOH	0,58	0,52	2,15	0,93
Nach 8 St.		240	7,9	0,7	0,09	0,23	0,28	0,67
6. Morgen		180	8,6	2,2 HCl	0,12	0,21	0,25	0,45

l) Versuch vom 4.—6. 6. 1936. Tier III.

Am Hafertier Phosphatlösung ($\frac{mol}{3}$ primäres und sekundäres Na-Phosphat aa) 5 ccm pro kg Tier, intravenös.

Ergebnis: keine Aenderung der Allgemeinbefindens. pH wird etwas saurer.

Die Phosphorsäurekonzentration und absolute Harnausscheidung ist 3 Stunden nach der Injektion praktisch unverändert. Das Absinken der absoluten Menge nach 8 Stunden wird wohl durch die äußerst geringe Harnproduktion erklärt.

Die Unwirksamkeit der Phosphorsäureinjektion auf die Ausscheidung ist wohl dadurch bedingt, daß die verabreichbare Dosis gegenüber der normalen Harnausscheidung zu unbedeutend war.

Auch die Ca-Schwankungen in absoluter Beziehung sind wohl durch die minimale Harnmenge bedingt.

Tier III.

Zeit	Futter und besondere Gaben	Harn-Menge	pH	Titrations-acidität	Ca		H_3PO_4	
					Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung	Millimol pro 100 ccm Harn	Millimol Gesamtausscheidung
4. 6. 36.								
Morgen	Hafer u. Wasser-							
Abend	gefäß	19	6,2	—	0,55	0,11	9,6	1,76
5. Morgen		15	6,8	—	1,85	0,28	17	2,55
	Phosphat-							
Mittag	lösung 10 ccm +							
	Phosphat-							
Nach 3 St.	lös. i. v.	27	6	—	1,5	0,41	10,1	2,73
Nach 8 St.		7	5,5	—	1,1	0,08	11,1	0,78
6.		7	—	—	2,0	0,14	17,4	1,22

Zusammenfassung.

Zusammenfassend läßt sich aus den verschiedenen Versuchen folgendes entnehmen:

1. Die Zufuhr von Ca- oder Phosphatjonen führt in allen Fällen zu einer Erhöhung der Ausscheidung des zugeführten Jons im Harn, sowohl bei intravenöser wie bei peroraler Darreichung.

2. Die Ausscheidung setzt sehr bald nach der Verabreichung ein und erreicht auch sehr bald ihren höchsten Wert, von dem aus sie dann langsam abfällt und nach 1—2 Tagen praktisch beendet zu sein scheint, insofern der größte Teil des zugeführten Salzes wieder ausgeschieden ist. Der Einfluß des Futters macht sich deutlich bemerkbar, indem bei Futter, das an sich an den entsprechenden Jonen reich war, die Ausscheidung rascher und vollkommener erfolgte. Es kann demnach auch aus unseren kurzfristigen Versuchen geschlossen werden, daß die Aufnahme zugeführter Jonen in den Körperbestand von dem jeweiligen Jonenbestand des Organismus abhängig ist.

3. Hinsichtlich der gegenseitigen Beeinflussung von Ca und Phosphat ergab sich, auch bei intravenöser Injektion, die wichtige Tatsache, daß sie sich in ihrer Ausscheidung gegenseitig hemmten, ihre Zurückhaltung im Organismus also gegenseitig begünstigten. Derselbe Einfluß ist auch schon vorhanden, wenn bei Ca-reicher Fütterung Phosphat verabreicht oder bei phosphatreicher Fütterung Kalk verabreicht wurde.

4. Was den Einfluß der Reaktion anbelangt, so ist zunächst festzustellen, daß selbst größere Mengen von Extra-Säure- oder -Laugezulage keinen sehr bedeutenden Einfluß auf Ausscheidung bzw. Zurückhaltung der Jonen hatten; offenbar, weil die verabreichbaren Mengen von Säure oder Lauge gegenüber der durch die Fütterung bedingten Reaktionslage des Organismus von relativ geringem Einfluß sind.

Auch bei den verschiedenen Futterarten wird der Mineralhaushalt mehr durch den entsprechenden Mineralgehalt des Futters als durch seine säuernde oder alkalisierende Wirkung bestimmt.

Immerhin ließ sich zeigen, daß Säuerung eine Vermehrung sowohl der Ca- wie der Phosphatausscheidung im Harn veranlaßt.

Lebenslauf.

Am 8. April 1913 in Ensisheim (Elsaß) als Sohn des Apothekers Dr. J. Häussermann geboren, besuchte ich 2 Jahre die Elementarschule Tübingen, 10 Jahre das Realgymnasium Heidenheim und bestand dort im März 1931 die Reifeprüfung.

Im S.S. 1931 begann ich das Studium der Medizin in Tübingen, wo auch das W. S. 1931/32 verbrachte. S.S. 1932 Innsbruck. W. S. 1932/33 und S.S. 1933 Freiburg Br., wo ich am Schluß des S.S. 1933 die ärztliche Vorprüfung bestand.

W.S. 1933/34 Tübingen. S.S. 1934 Wien.

Vom 1. 11. 1934 bis 12. 10. 1935 diente ich als Freiwilliger im II/I. R. Konstanz, Standort Donaueschingen.

W.S. 1935/36 Berlin. S.S. 1936 und W.S. 1936/37 Tübingen.

Ärztliches Staatsexamen beendigt am 3. Juni 1937 in Tübingen.

Martin Häussermann.